

## **BAB 1**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Kefir merupakan salah satu jenis susu fermentasi yang berasal dari Kaukasian Utara, Rusia dan dibuat dengan menginokulasikan starter granula kefir (*kefir grain*) ke dalam substrat susu (Otzoa *et al.*, 2006 ; Safitri dan Swarastuti, 2013). Kefir yang menggunakan bahan baku susu disebut kefir susu (*milk kefir*) (Safitri dan Swarastuti, 2013). Ciri-ciri kefir susu yaitu memiliki kesan berkarbonatasi, alkoholik, rasa asam, dan tekstur seperti *cream* (Gulitz *et al.*, 2011). Perbedaan kefir dengan produk susu fermentasi lainnya adalah kefir memiliki kesan berkarbonatasi dan menggunakan *kefir grain* sebagai kultur starter (Otzoa *et al.*, 2006 ; Gulitz *et al.*, 2011).

Dalam perkembangannya, kefir tidak hanya dibuat dengan menggunakan susu tetapi juga dapat dibuat dengan menggunakan ekstrak buah yang disebut *fruit kefir* (Gulitz *et al.*, 2011). Ciri-ciri kefir buah antara lain memiliki kesan berkarbonatasi, kesan alkoholik, rasa asam, rasa segar khas buah, dan berbentuk cair. Buah yang dapat digunakan sebagai substrat harus mengandung gula yang dapat digunakan untuk fermentasi contohnya adalah murbei.

Pemilihan buah murbei sebagai bahan baku pembuatan kefir buah didasari oleh kandungan gula alami, sifat fungsional, dan meningkatkan pemanfaatan murbei yang masih terbatas pada daun sebagai pakan ulat sutra (Azmi dan Yunianta, 2015). Kandungan gula pereduksi pada murbei adalah 92,72 g/kg dan total gulanya sebesar 101.04 g/kg (Koca *et al.*, 2008). Buah murbei yang digunakan dalam kondisi masak (ditandai dengan warnanya ungu kehitaman, dominasi rasa asam, dan tekstur empuk) agar polisakarida

yang terkandung dalam buah sudah mengalami degradasi menjadi gula-gula sederhana yang dapat dengan mudah digunakan oleh mikroba dalam starter. Kandungan vitamin C, E, dan A serta pigmen antosianin (sebagai antioksidan) meningkatkan sifat fungsional murbei dalam tubuh manusia (Nast, 2014 ; Natalia, 2011). Dalam penggunaannya sebagai substrat, buah murbei diekstraksi dengan pelarut berupa air dan perbandingan buah serta air adalah 1:5. Ekstraksi bertujuan untuk menyiasati produksi buah murbei yang terbatas di daerah Jawa Timur dan memudahkan pemanfaatan nutrisi dalam jaringan buah. Pada penelitian ini menggunakan ekstrak murbei 1:5 karena mengandung nutrisi yang menunjang aktivitas metabolisme BAL dan khamir dalam kefir yang ditandai dengan total BAL dan khamir pada kefir sudah memenuhi CODEX yaitu  $10^8$  cfu/ml dan memiliki tingkat penerimaan terkait rasa dan warna yang paling tinggi ditinjau dari penelitian milik Nugerahani dkk. (2015).

Ekstraksi menyebabkan penurunan kadar gula dalam murbei sehingga perlu penambahan gula pasir (sukrosa) agar jumlah sumber karbon dalam kefir cukup untuk fermentasi. Konsentrasi gula yang ditambahkan dalam pembuatan kefir buah dipengaruhi oleh substrat yang digunakan. Cui *et al.* (2012), dalam pembuatan kefir kenari (*walnut*) sukrosa sebesar 8% (b/v), suhu 30°C, dan lama fermentasi sebesar 12 jam merupakan kondisi optimum bagi produk kefir kenari. Kefir air dengan konsentrasi gula 2% layak dikonsumsi hingga fermentasi 79 jam ditinjau dari total padatan terlarut, pH, kadar gula, dan total asam laktat (Lidia dan Sugiharti, 2013). Kefir kacang kedelai dengan konsentrasi gula 2% (b/v), suhu inkubasi 22°C, dan starter 4% merupakan kefir yang paling disukai oleh panelis (Pourahmad *et al.*, 2011). Pada penelitian pendahuluan, konsentrasi gula pasir 10, 15, dan 20% (b/v) menghasilkan total bakteri asam laktat dan khamir yang berkisar antara  $10^8$ - $10^{10}$  cfu/ml. Selanjutnya, dilakukan orientasi kembali dengan menurunkan konsentrasi gula pasir menjadi 2%

dan 8% (b/v). Total bakteri asam laktat dan khamir pada kefir murbei dengan konsentrasi gula pasir 2% dan 8% (b/v) adalah  $10^8$  log cfu/ml dan masuk dalam standar menurut CODEX. Berdasarkan penelitian pendahuluan tersebut, konsentrasi gula pasir yang dipilih adalah 2% dan 8% (b/v).

Starter yang digunakan dalam pembuatan kefir murbei berupa *kefir grain* (biji kefir) dalam bentuk kering dan perlu diaktifkan terlebih dahulu dalam susu. Biji kefir berasal dari mikroba yang terimobilisasi dalam matriks protein dan polisakarida. Mikroba yang ada dalam biji kefir umumnya bakteri asam laktat, bakteri asam asetat, bifidobakteria dan khamir (Leite *et al.*, 2013), namun dalam penelitian ini mikroba yang tersusun dalam *kefir grain* adalah bakteri asam laktat dan khamir. Metabolit utama yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat adalah asam laktat melalui fermentasi homofermentatif dan heterofermentatif sedangkan khamir dalam starter berperan memproduksi etanol dan karbon dioksida sehingga dihasilkan kefir dengan karakteristik berkarbonasi dan sedikit alkoholik. Penambahan starter dalam pembuatan kefir buah bervariasi dipengaruhi oleh substrat yang digunakan sebagai media fermentasi mikroba dalam *kefir grain*. Sawitri (2012) menggunakan *kefir grain* dengan konsentrasi 1%, 2%, dan 3% (v/v) dalam pembuatan kefir dari susu rendah lemak. Dalam penelitian tersebut konsentrasi starter 1% (b/v) dan lama fermentasi 21 hari merupakan perlakuan terbaik. Supriyono (2008) menggunakan kultur starter murni yang terdiri atas campuran *Lactobacillus bulgaricus* dan *Candida kefir* dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15% (v/v) dalam pembuatan kefir kacang hijau dan perlakuan terbaik dengan menggunakan starter 15% (b/v). Sabokbar dan Khodaiyan (2015) menggunakan inokulum *kefir grain* sebesar 5% dan 8% (b/v) dalam pembuatan kefir delima. Perlakuan terbaik untuk penelitian tersebut adalah dengan menggunakan inokulum starter 8% (b/v) dan suhu 25°C. Pada penelitian pendahuluan didapatkan hasil bahwa

kefir dengan konsentrasi gula pasir 5%, 10%, 15% (b/v), dan starter 15% serta 20% (v/v) menghasilkan total BAL dan khamir yang sama yaitu  $10^8$  -  $10^{10}$  cfu/ml sehingga konsentrasi gula pasir dan starter diturunkan untuk menghasilkan kefir yang efisien namun masih memenuhi standar CODEX. Konsentrasi starter 1% dan 10% (v/v) dengan rentang yang besar tersebut diharapkan mampu membuktikan pengaruh penambahan starter dalam pembuatan kefir murbei.

Perbedaan konsentrasi gula pasir dan starter pada kefir murbei akan mempengaruhi sifat kimia yaitu total padatan terlarut, kadar alkohol, dan total bakteri asam laktat serta khamir pada kefir murbei. Uji total padatan bertujuan untuk mengetahui bagaimana penggunaan gula (sukrosa) oleh khamir maka hasil pegujian total padatan terlarut pada kefir murbei akan lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak murbei. Prinsip pengujian total padatan terlarut adalah pembiasan cahaya refraktometer terhadap sampel. Total padatan terlarut tersusun atas gula (sebagai penyusun utama), protein, karbohidrat, vitamin, mineral, dan asam-asam organik (Harijono dkk., 2001). Total padatan terlarut dipengaruhi oleh gula pasir karena sukrosa bersifat mudah larut dalam air sehingga semakin tinggi konsentrasi gula pasir maka semakin tinggi total padatan terlarut (Mohrle, 1989 dalam Meikapasa dan Seventilofa, 2016).

Uji kadar alkohol bertujuan untuk mengetahui laju metabolime selama fermentasi yang ditandai dengan pembentukan etanol. Pada umumnya, kadar alkohol dalam kefir adalah 0,5-1% (Gulitz *et al.*, 2011 ; Rahman dkk., 1992 ; Surono, 2004). Etanol merupakan hasil dari metabolit khamir dan bakteri asam laktat heterofermentatif. Etanol yang terbentuk selama fermentasi dipengaruhi oleh mikroba yang berperan selama fermentasi dan kandungan nutrisi dalam substrat yaitu gula. Kunaepah (2008) melakukan pengujian kadar alkohol dengan prinsip destilasi terhadap kefir susu kacang merah dengan perlakuan konsentrasi gula 5, 10, 15 % (v/v) dan didapatkan

suatu simpulan bahwa variasi konsentrasi gula tidak berpengaruh nyata terhadap kadar alkohol. Hasil pengujian kadar alkohol terhadap kefir rendah lemak menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi *kefir grain* yang ditambahkan [1%, 2%, dan 3% (v/v)] menyebabkan peningkatan kadar alkohol (Sawitri, 2012).

Uji total bakteri asam laktat dan khamir menggunakan metode angka lempeng total. Penelitian yang dilakukan oleh Wignyanto dkk. (2014) terkait kefir buah tomat menghasilkan total mikroba sebesar antara  $3,63 \times 10^7$  -  $4,68 \times 10^8$  cfu/ml dengan perlakuan gula 7,5%, 12,5%, dan 15% (b/v) serta starter kefir 10% (v/v). Perlakuan terbaik pada penelitian kefir nira siwalan adalah pada perlakuan pengenceran (nira siwalan : air) 1:7 dan suhu inkubasi 25°C selama 24 jam menghasilkan nilai total BAL sebesar  $5,62 \times 10^7$  cfu/ml dan total khamir  $1,20 \times 10^6$  cfu/ml (Mubin dan Zubaidah, 2015).

Konsentrasi gula pasir dan starter dalam ekstrak murbei akan berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba dalam starter kefir dan tentunya pada nutrisi terlarut yang dapat diketahui melalui total padatan terlarut. Hal ini akan berpengaruh juga pada total mikroba dalam kefir dan metabolit yang dihasilkan seperti etanol dan asam laktat. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengkaji pengaruh konsentrasi gula pasir dan starter terhadap sifat kimia (total padatan terlarut dan kadar alkohol) dan total mikroba pada kefir murbei.

## **1.2. Rumusan Masalah**

- 1.2.1. Bagaimana interaksi konsentrasi gula pasir dan starter terhadap sifat kimia meliputi total padatan terlarut dan kadar alkohol serta total mikroba kefir murbei?
- 1.2.2. Bagaimana pengaruh konsentrasi gula pasir terhadap sifat kimia meliputi total padatan terlarut dan kadar alkohol serta total mikroba kefir murbei?

- 1.2.3. Bagaimana pengaruh konsentrasi starter terhadap sifat kimia meliputi total padatan terlarut dan kadar alkohol serta total mikroba kefir murbei?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

- 1.3.1. Mengetahui interaksi konsentrasi gula pasir dan starter terhadap sifat kimia meliputi kadar alkohol dan total padatan terlarut serta total mikroba kefir murbei.
- 1.3.2. Mengetahui pengaruh konsentrasi gula pasir terhadap sifat kimia meliputi kadar alkohol dan total padatan terlarut serta total mikroba kefir murbei.
- 1.3.3. Mengetahui pengaruh konsentrasi starter terhadap sifat kimia meliputi kadar alkohol dan total padatan terlarut serta total mikroba kefir murbei.